

BIOTHÉRAPIES ET THÉRAPIES CIBLÉES

Dr Arsène Mekinian, Pr Olivier Fain

Service de médecine interne, hôpital Saint-Antoine, AP-HP, université Paris-VI, 75012 Paris, France

arsene.mekinian@aphp.fr

objectifs

CONNAÎTRE les bases cellulaires et moléculaires des cellules souches embryonnaires et adultes, des cellules reprogrammées.

CONNAÎTRE les principes des thérapies cellulaires et géniques.

EXPLIQUER les principes d'évaluation des biothérapies.

CONNAÎTRE les bases cellulaires et tissulaires d'action des thérapies ciblées.

ARGUMENTER les principes de prescription et de surveillance.

Principes des thérapies cellulaires et géniques

Cellules souches

1. Cellules souches adultes

Les cellules souches adultes sont naturellement présentes dans les organes, et participent au renouvellement et à la réparation des tissus adultes.

2. Cellules souches embryonnaires

Issues de l'embryon à un stade très précoce de son développement, les cellules souches embryonnaires sont capables de se multiplier à l'infini, par simple division (autorenouvellement), et de donner naissance à tous les types de cellules de l'organisme (pluripotence).

Les cellules souches embryonnaires sont cultivées à partir de cellules dans l'embryon quand il est âgé de seulement quelques jours et, chez les humains, cela correspond au blastocyste. Elles sont pour le moment principalement utilisées en recherche médicale mais, du fait de leur pluripotence, elles pourraient l'être pour produire des cellules humaines différenciées et être transplantées afin de guérir les tissus malades.

Greffes de moelle ou de cellules souches

1. Cellules souches hématopoïétiques (CSH)

Les cellules souches médullaires sont des cellules capables de s'autorenouveler et de donner naissance à au moins une lignée cellulaire différenciée. Elles peuvent être totipotentes (à l'origine de toutes les lignées), pluripotentes (la quasi-totalité des cellules) ou multipotentes (plusieurs lignées cellulaires).

Ces greffes peuvent avoir pour rôle de remplacer (une moelle aplasique, une population cellulaire génétiquement malade...) ou de lutter contre une maladie (hémopathie maligne). En effet, l'agression du greffon contre l'hôte a un effet positif, à savoir l'éradication des cellules malignes encore présentes. C'est l'effet GVL (*graft versus leukemia*) qui est recherché.

2. Principe

Il s'agit de remplacer le tissu hématopoïétique du receveur par celui du donneur. De ce fait, l'allogreffe doit être précédée et accompagnée par une immunosuppression lourde, afin d'éviter la réaction de rejet (du greffon donneur vers le receveur).

Les greffes peuvent être « myéloablatives » (conditionnement pré-greffe standard, chimiothérapique, et parfois avec une irradiation corporelle totale, à triple activité : antitumorale, anti-moelle normale, immunosuppresseur) ou non myéloablatives (à conditionnement atténué : l'activité du greffon permet à elle seule d'éliminer la moelle résiduelle du receveur). Il y a moins de toxicité de ce type de greffe, mais un risque accru de maladie du greffon contre l'hôte.

3. Source cellulaire des cellules souches hématopoïétiques

Cela peut être :

- à partir de la moelle osseuse (prélèvement en crête iliaque sous anesthésie générale) ;
- à partir du sang périphérique : les cellules souches hématopoïétiques sont obtenues par cytophérèse après injection de G-CSF ;
- à partir du sang placentaire.

4. Donneurs de cellules souches hématopoïétiques (CSH)

Ils peuvent être :

- apparentés (HLA identique ou pas) : un frère ou une sœur identique (1 chance sur 4), les parents pour un enfant (haplo-identique) ;

- non apparentés : donneurs vivants non apparentés du registre international ;
- du sang placentaire (à partir d'un ou plusieurs donneurs).

5. Indications

Ce sont :

- des hémopathies malignes myéloïdes (leucémies aiguës, leucémies chroniques, syndromes myéloprolifératifs) ou lymphoïdes (lymphomes, leucémies lymphoïdes chroniques...) ;
- des aplasies médullaires, le plus souvent idiopathiques ;
- des pathologies génétiques : drépanocytoses, déficits immunitaires combinés sévères, autres maladies génétiques rares.

6. Complications des greffes de cellules souches hématopoïétiques allogéniques

Ce sont :

- des infections : du fait de l'immunosuppression nécessaire, il existe une augmentation du risque infectieux (bactérien, viral, fongique) ;
- une réaction du greffon contre l'hôte (GVH) : les réactions du greffon contre l'hôte peuvent être aiguës (avant J100) ou chroniques (après J100). La maladie du greffon contre l'hôte aiguë peut être de grade I à IV, avec une fièvre, une atteinte cutanée (rash, érythrodermie), une hépatite cholestatique, une atteinte digestive (diarrhée).

Thérapie génique

La thérapie génique est une stratégie thérapeutique fondée sur le transfert de gènes avec l'objectif d'introduire la copie normale ou de modifier l'expression du ou des gènes responsables de la maladie chez le patient. Le gène exogène est ainsi un médicament dont l'objectif est de modifier la source de la protéine ou de la molécule anormale, c'est-à-dire le matériel génétique.

Il existe deux modalités de thérapie génique :

- somatique, qui consiste à transférer le(s) gène(s) au patient (soit *in vivo* dans le tissu cible à l'aide d'un vecteur, soit *ex vivo* en modifiant les cellules cibles qui seront ré-administrées au patient) ;
- germinale, qui n'est pas actuellement utilisée du fait de lois bioéthiques et qui consisterait à introduire un gène à l'embryon au stade précoce et ainsi le transmettre à toutes les cellules qui seront formées au cours de l'embryogenèse.

Les vecteurs sont le plus souvent viraux, ou non viraux (tels que des sphères lipidiques, les liposomes).

La thérapie génique est encore au stade d'essais cliniques, mais les indications théoriques pourraient être très nombreuses.

Thérapie ciblée en oncologie et hématologie

Dans le traitement des pathologies néoplasiques, les différentes stratégies peuvent comprendre le traitement carcinologique chirurgical, par radiothérapie ou chimiothérapie visant à diminuer ou éradiquer la masse tumorale. Les nouvelles thérapies ciblées complètent les choix des thérapeutiques possibles, visant de

façon spécifique un élément ou événement moléculaire caractérisant une cellule tumorale. Pour qu'une cible soit pertinente, elle doit être exprimée par un grand nombre de cellules tumorales, être accessible à une thérapeutique et que son ciblage ait un impact clinique. La cible peut être un marqueur exprimé spécifiquement par un type cellulaire particulier, une molécule dans la transduction du signal, en particulier celui de la cellule tumorale (tel qu'un récepteur HER2), un facteur de croissance nécessaire à l'expansion tumorale (tel que le VEGF [pour *vascular endothelial growth factor*]).

Les anomalies moléculaires spécifiques des cellules tumorales le plus souvent ciblées sont les molécules de la famille HER, les gènes de fusion (ABL-BCR) et la néo-angiogenèse tumorale. Ces cibles sont différenciellement exprimées entre les tissus sains et le tissu tumoral. Les anticorps monoclonaux humanisés (x-mab) ciblent ses marqueurs cellulaires et les petites molécules les fonctions tyrosine kinase (X-inib).

Parmi les anticorps monoclonaux, les principaux sont les anticorps anti-CD20, ciblant les lymphocytes B de façon spécifique. Ils sont indiqués, entre autres, dans le traitement des lymphomes B. En oncologie, notamment dans le traitement de certains cancers du sein, les anticorps anti-HER2 bloquent la transmission du signal de la réplication du HER2, empêchant la prolifération des cellules tumorales. Le VEGF est un facteur de croissance des cellules endothéliales nécessaire à la croissance et la vascularisation des tissus. Le blocage de cette molécule peut inhiber la croissance tumorale. Les thérapies anti-angiogéniques ciblent la population endothéliale (stroma). L'anticorps monoclonal bévacizumab (Avastin) bloque le VEGF, il est utilisé dans le cancer colorectal et le cancer du sein métastatiques.

Les « petites molécules » : le sorafénib (Nexavar) ou le sunitinib (Sutent) sont indiqués dans le carcinome hépatocellulaire et le cancer du rein métastatique. Dans ce cas, on cible une molécule produite par la tumeur et non pas directement la tumeur elle-même.

Immunothérapies en oncologie et en médecine interne (tableaux 1 et 2)

L'immunothérapie consiste à moduler (inhiber, activer) le système immunitaire, afin d'induire le contrôle d'une tumeur, d'une maladie auto-immune ou d'une greffe d'organe. Celle-ci peut être spécifique (par exemple d'un antigène tumoral particulier, d'un auto-antigène) ou non spécifique, modulant de façon générale non spécifique d'un antigène la réponse immunitaire. Bien qu'étant non spécifique d'un antigène tumoral ou d'un auto-antigène, cette immunothérapie non spécifique est une thérapie ciblée, inhibant par exemple une cytokine particulière (les anticorps anti-TNF α) ou un type de cellules en particulier (les lymphocytes B par les anticorps anti-CD20).

Les différents types d'immunothérapie non spécifique sont dirigés contre les :

- cytokines immunomodulatrices (activatrices ou inhibitrices) ;
- molécules d'interaction cellulaires (anti-CTLA4, anti-PD1...) ;



POINTS FORTS À RETENIR

- L'allogreffe consiste à remplacer le tissu hématopoïétique du receveur par celui du donneur et de ce fait doit être précédée par une immunosuppression lourde, afin d'éviter la réaction de rejet.
- La thérapie génique est une stratégie thérapeutique fondée sur le transfert de gènes avec l'objectif d'introduire la copie normale ou de modifier l'expression du ou des gènes responsables de la maladie chez le patient.
- L'immunothérapie consiste à moduler (inhiber, activer) le système immunitaire, afin d'induire le contrôle d'une tumeur, d'une maladie auto-immune ou d'une greffe d'organe. Celle-ci peut être spécifique (antigène tumoral particulier, auto-antigène) ou non spécifique, modulant de façon générale non spécifique d'un antigène la réponse immunitaire.

- molécules d'angiogenèse (anti-VEGF...) [v. chapitre précédent] ;
- cellules du système immunitaire.
- Les différents types d'immunothérapie spécifique sont :
- passive (administration d'effecteurs antitumoraux) :
- anticorps monoclonaux ciblant une cellule, un récepteur cellulaire ou une voie de signalisation ;
- transfert adoptif de lymphocytes T spécifiques CTL (spécifiques d'un antigène de tumeur ; lignées CTL modifiées pour exprimer un TCR spécifique d'un antigène tumoral) ;
- active (administration d'un antigène spécifique pour initier la réponse spécifique adaptative) : vaccination avec un antigène pour induire des lymphocytes T cytotoxiques de tumeurs spécifiques *in vivo*.

Cytokines immunomodulatrices (activatrices ou inhibitrices)

Les cytokines sont un ensemble hétérogène de molécules synthétisées par des cellules activées et qui se lient à un récepteur membranaire spécifique. Une même cytokine peut être produite par des cellules différentes et avoir des effets différents et redondants entre elles. Les cytokines sont impliquées dans l'inflammation, la réponse immunitaire et l'hématopoïèse. En ce qui concerne leur effet sur l'inflammation, on distingue des cytokines pro-inflammatoires (telles que TNF- α , IL-1, IL-6, etc.) et anti-inflammatoires (tels que IL-10). Ainsi, parmi les anticorps anti-cytokines, ceux les plus utilisés dans les rhumatismes inflammatoires sont les anticorps anti-TNF- α qui bloquent l'action du TNF- α soluble et/ou membranaire en se liant au TNF- α avec une haute affinité et spécificité, et empêchent ainsi l'action de la cytokine sur les cellules cibles. Un autre anticorps monoclonal anti-

cytokine pro-inflammatoire est le tocilizumab, anticorps anti-IL6 récepteur, empêchant la fixation d'IL-6 soluble sur son récepteur et ainsi l'action de celui-ci sur la cellule cible.

Molécules d'interaction cellulaire (anti-CTLA4, anti-PD1)

De façon similaire, il existe des anticorps monoclonaux ciblant les molécules impliquées dans l'activation cellulaire ou les interactions entre les cellules et la synapse immunologique. Ainsi, l'abatacept et le bélatacept sont des protéines de fusion entre CTLA4 (CD152), un antigène lymphocytaire T apparenté à CD28 doué de propriétés immunorégulatrices, et le Fc d'une IgG1. Elles se lient aux molécules de costimulation CD80 et CD86 des cellules présentatrices d'antigène avec une plus forte affinité que CD28 et, de ce fait, elles bloquent le second signal et empêchent l'activation des lymphocytes T. Leur activité immunosuppressive est mise à profit dans le traitement de la polyarthrite rhumatoïde (abatacept) et en transplantation (bélatacept).

Anticorps monoclonaux ciblant une cellule, un récepteur cellulaire ou une voie de signalisation

Le rituximab est un anticorps monoclonal dirigé contre la molécule CD20 présente de façon spécifique à la surface des cellules B du stade pré-B au stade de lymphocyte B mature. Il s'agit d'un anticorps chimérique composé de domaines constants humains et de domaines variables murins. Le rituximab induit une déplétion lymphocytaire B par différents mécanismes, induisant une apoptose de lymphocytes B.

Des anticorps contre l'EGFR (*epidermal growth factor receptor*) [cétuximab et panitumumab] bloquent la croissance tumorale et sont indiqués dans le traitement des adénocarcinomes coliques et, pour le cetuximab, des carcinomes épidermoïdes de la sphère ORL. Un anticorps monoclonal dirigé contre le récepteur HER2, le trastuzumab, est indiqué dans le traitement des tumeurs du sein et de l'estomac surexprimant cet oncogène.

Principes d'évaluation des biothérapies

Les principales biothérapies ciblées utilisées actuellement en rhumatologie et médecine interne sont les antagonistes du TNF α (infliximab, étanercept, adalimumab, certolizumab, golimumab), les anti-IL1 (anakinra, canakinumab), les antagonistes IL-6R (tocilizumab), l'agoniste de CTLA-4 (abatacept), l'anti-BLYS (bélimumab) et l'anticorps anti-CD20 (rituximab).

La prescription de la biothérapie sera dépendante de l'indication clinique, du choix de la galénique (sous-cutanée ou intraveineuse), du rythme de la perfusion d'entretien (mensuel pour le tocilizumab, tous les 6-8 semaines pour l'infliximab, une cure de J1-15 à renouveler selon la réponse pour le rituximab), d'autres facteurs tels que les habitudes de prescription, l'âge ou les comorbidités. Certains de ces traitements peuvent être utilisés en première ligne ou après échec d'autres traitements, en particulier les immunosuppresseurs conventionnels.

TABLEAU 1

Différentes biothérapies utilisés pour le traitement des maladies auto-immunes

Nom	Caractéristique	Voie d'administration et posologie	Précaution d'utilisation	Principaux effets secondaires
Infliximab (Remicade) Étanercept (Enbrel) Adalimumab (Humira)	■ Antagonistes de TNF α	■ 3-5 mg/kg 6-8 semaines (IV) ■ 25-50 mg/semaine (SC) ■ 40 mg/15 jours (SC)	■ Vaccinations, prévention BK	■ Réactions d'hypersensibilité ■ Infections ■ Réactivation BK ■ Cancers cutanés
Tocilizumab (Roactemra)	■ Anti-IL-6 Récepteur	■ 4-8 mg/kg/mois (IV)	■ Vaccinations, prévention BK, suivi dermatologique	■ Réactions d'hypersensibilité ■ Infections ■ Réactivation BK ■ Cancers cutanés
anakinra (Kineret)	■ Anti-IL-1	■ 100 mg/jour (SC)	■ Vaccinations, prévention BK, suivi dermatologique	■ Réactions d'hypersensibilité ■ Infections ■ Réactivation BK
rituximab (Mabthera)	■ Antagoniste de CD20	■ 1 g J1-J15 (IV) ■ 375 mg/m ² /semaine, 4 semaines (IV)	■ Vaccinations, prévention BK	■ Réactions d'hypersensibilité ■ Infections ■ Hypogammaglobulinémie

BK : bacille de Koch ; CD20 : cluster de différenciation 20 ; IL : interleukine ; IV : intraveineux ; SC : sous-cutané ; TNF α : *tumor necrosis factor alpha*.

TABLEAU 2

Différentes formes de thérapies ciblées utilisées en oncologie et hématologie (non exhaustif)

Nom	Caractéristique	Biomarqueur	Indication
Imatinib, dasatinib	■ Inhibiteurs de tyrosine kinase	■ Translocation BCR-ABL	■ LMC, LAL
Gefitinib	■ Inhibiteur de tyrosine kinase du récepteur de facteur de croissance épidermique	■ Mutation EGFR	■ Cancer poumon
Sorafénib	■ Inhibiteur de tyrosine kinase du récepteur de VEGF	-	■ Cancer hépatocellulaire, cancer du rein métastatique
Cétuximab	■ Anticorps monoclonal ciblant le récepteur de facteur de croissance épidermique (EGFR)	■ Mutation KRAS (présence de mutation KRAS confère une résistance à cette molécule)	■ Cancer colorectal métastatique
Trastuzumab	■ Anticorps monoclonal ciblant récepteur HER2	■ Amplification HER2	■ Cancer du sein, cancer gastrique
Bévacizumab	■ Anticorps monoclonal ciblant le facteur de croissance VEGF-	-	■ Cancer colorectal métastatique

BCR-ABL : *break-point cluster region-Abelson* ; EGFR : *epidermal growth factor receptor* ; KRAS : *kirsten rat sarcoma* ; LAL : leucémie aiguë lymphoïde ; LMC : leucémie myéloïde chronique ; VEGF : *vascular endothelial growth factor*.

Leur prescription nécessite :

- une évaluation de l'efficacité du traitement, sur les paramètres de la maladie mais également sur la qualité de vie et dans certaines situations, telle que la polyarthrite rhumatoïde, la diminution du risque de morbi-mortalité cardiovasculaire ;
- une surveillance des effets indésirables ;
- des conseils de prévention de risque infectieux dans les situations de chirurgie, de voyages et de grossesse.

L'évaluation de l'efficacité comportera, selon le cadre de la maladie, des examens cliniques (amélioration ou disparition des atteintes cliniques et évaluation subjective du patient), biologique (tels que le syndrome inflammatoire biologique) et/ou immunologique (tels que la normalisation des anti-ADN ou de complément), pouvant être combinés dans un score tel que DAS28 pour la surveillance de la polyarthrite rhumatoïde.

Les principaux effets secondaires des biothérapies ciblées sont les allergies, les infections (virales, bactériennes et parasitaires), le risque de réactivation de tuberculose et le risque de cancers cutanés. De façon très rare, il existe un risque de pathologie auto-immune, telle qu'une maladie démyélinisante du système nerveux central ou un lupus.

Message de l'auteur

- Connaître les principes de la greffe de moelle ou de cellules souches et de la thérapie génique.
- Connaître les principes des thérapies ciblées et les principales cibles moléculaires.
- Connaître les principes d'immunothérapie, les différents types et les principes d'évaluation des biothérapies.

Conclusion

L'essor des immunothérapies et des thérapies ciblées devrait permettre de gagner en efficacité thérapeutique, tout en diminuant les effets secondaires. La stratégie, pour être efficace, doit cibler une molécule particulièrement impliquée dans la physiopathologie de la maladie. •

A. Mekinian déclare avoir été pris en charge lors de congrès par LFB, Genzyme et Chugai. O. Fain déclare être conseiller scientifique auprès des laboratoires Shire, Behring, GSK et Pfizer.
